

論 説

花粉粒内生殖細胞中にみられる
電子透過性の顆粒

三木壽子・中村澄夫*

Electron transparent vesicles in the generative cell of pollen grains.

Hisako MIKI-HIROSIGE and Sumio NAKAMURA**

テッポウユリ *Lilium longiflorum* の花粉管内の生殖細胞の核の上下方向の両端に電子顕微鏡で見ると電子透過性の顆粒が多数存在する(Fig. 1)。この顆粒はスイセン *Narcissus Tazetta* (Fig. 2) およびスイートピー *Lathyrus odoratus* (Fig. 3) の花粉粒内の生殖細胞中にも見られる。われわれは今回この顆粒の起源およびその性質について検討する。

本論文を上野実朗教授退官記念号に寄せる。

材料および方法

材料としては本学甫場に栽培しているテッポウユリ (*Lilium longiflorum*)、スイセン (*Narcissus Tazetta*) およびスイートピー (*Lathyrus odoratus*) を用いた。

使用した花粉粒は適当な時期に甫場より採集した蕾の葯からとり出して固定した。花粉管を用いる場合には、10%蔗糖・2%寒天を用いた培地上に、開花開葯した花よりとり出した花粉をまいて30°Cで

培養後、発芽した花粉管内に生殖細胞が存在するのを光学顕微鏡で確かめた上で固定した。ふつう固定には、3% Glutaraldehyde 溶液および1%OsO₄液(pH 7.3)を用いて二重固定を行い、その後エタノール・アセトンシリーズで脱水し、エポン-アラルダイト混液(Epon 812-Araldite 6005 Mixture: 1:1 v/v)¹⁾に包埋した。

材料はライヘルトウルトラミクロームを用いて超薄切片を作製し、酢酸ウラニウムおよび鉛混液で二重染色¹⁰⁾をして、JEM-100B 電子顕微鏡で観察した。

多糖類を検出するには、超薄切片を作製してからPeriodic Acid-Silver Methenamine Method⁷⁾を用いて染色して検鏡に供した。この場合は3% Glutaraldehyde のみで固定した材料を用いた。

結果および考察

テッポウユリでは蕾長5.6 cm の頃体細胞分裂が

* 神奈川県歯科大学生物医学研究室

〒238 横須賀市稲岡町 82

** Biological Laboratory, Kanagawa Dental College, Inaoka, Yokosuka, Japan

終了して、花粉粒内には生殖細胞と栄養核が存在する。この生殖細胞の細胞質内には、核をとり囲むようにして多くの lipid droplets が散在する (Fig. 4)。花粉が成長するにつれて、lipid droplet の端の方に空胞即ち電子透過性が高く、白く抜けて見える部分がみられるようになる (Fig. 5 : 蕾長 7.4 cm)、この時期の切片を Periodic Acid-Silver Methenamine Method で処理すると、lipid droplet の端の方に明らかに質の異なる部位が観察される (Fig. 6)。これらのことからここに物質の移動が生じたことが推量される。さらに花粉が成長してくると空胞 (一重膜でとり囲まれた電子透過性の高い顆粒 : electron transparent vesicle) が目立ち lipid droplets は殆んど見られなくなる (Fig. 7 : 蕾長 9.5 cm)。この頃生殖細胞の細胞質中に microtubules が見られる (Fig. 8)。スイセンの完熟に近い花粉粒内 (Fig. 2) でも同様な microtubules が観察される。仁木・中沢⁶⁾は *Tradescantia reflexa* Rafin で、Sanger & Jackson⁸⁾⁹⁾は *Haemanthus Katherinae* Baker で、同様の構造を報告している。ここで Sanger らはこの microtubules は核の紡錘状の形態を保つために存在すると報告しているが、われわれの観察によると、今まで核をとりまいて存在していた電子透過性顆粒が microtubules の出現により、細胞の両極に押しやられたように見える (Fig. 1. 2.)。

Fig. 2はスイセンの殆んど完熟に近い花粉粒 (蕾長 2.5 cm)、Fig. 9はテッポウユリの完熟花粉 (開花期) であるが、これらの生殖細胞内には多くの電子透過性顆粒が存在し、lipid droplets は全く観察されない。なおこの顆粒の中には未知の黒い沈着物が時々見られることがある (Fig. 9→)。

さらに Fig. 1は3時間培養した発芽花粉の花粉管内の生殖細胞を示すものであるが、この場合にも花粉管内に縦に長く伸びた生殖細胞の核の上部と下部に電子透過性顆粒が集まっているのが観察される。

上述のように花粉粒生殖細胞内には、はっきりと多数存在する電子透過性顆粒とは何であろうか。これらの顆粒が lipid droplets に由来することは確認されたが、単に lipid の抜け出た空胞なのであろうか。それならば、なぜ小さくなって消滅してしまわないのであろうか。われわれの観察したものなかで、テッポウユリ・スイセンでは顆粒の存在は多く、かつ顕著であるが、スイートピーでは顆粒の状態がこれらのものとは少し異っている。他の研究者たちの報告したものでは、Dunwell and Sunderland³⁾が *Datura innoxia* で、われわれの観察している電子透過性顆粒と同じようなオルガネラを、vacuole とよび generative cell wall へと移行することを報告している。しかしわれわれはこの時期には顆粒と細胞壁との直接の関連性は観察していない。Sanger and Jackson⁸⁾⁹⁾は *Haemanthus Katherinae* Baker で mitosis 直後の generative cytoplasm 内にある同様のものを vacuole と記載しているが説明はない。また Cass and Karas²⁾の報告している barley の生殖細胞の分裂の際の細胞質内に、われわれの問題にしているものと同様の構造が見られるが、これについては何ら言及はされていない。また中沢のムラサキツユクサ⁵⁾⁶⁾、Ledbetter and Porter⁴⁾の *Saintpaulia ionantha* Wendl. の生殖細胞の細胞質中にはこの顆粒は見られないようである。

テッポウユリの発達した花粉管 (培養時間 16hrs. Fig. 10) の生殖細胞では、この顆粒は生殖細胞壁と融合したり、内容物の lipid らしい物質が生殖細胞壁中に放出される (Fig. 11) のが見られることから、この顆粒は生殖細胞壁の代謝と関係があるかもしれない。その細胞化学的性状および他のオルガネラ、とくに生殖細胞壁や microtubules との関係をさらに追求中である。

なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金、総合研究 (A) (課題番号 830407) によって行われた。

Abstract

Many electron-transparent vesicles are observed in the generative cytoplasm of a growing pollen tube of *Lilium longiflorum*. These vesicles are also observed in the generative cytoplasm of *Narcissus Tazetta* and *Lathyrus odoratus*. We have traced the origin of these vesicles in the developing pollen grains.

There are many lipid droplets around the nucleus in a generative cytoplasm just after mitosis but not the electron-transparent vesicles (the bud length is 5.6 cm). The number of lipid droplets become smaller, coincident with pollen development. In the stage when the bud length is 7.4 cm, the vesicle is assumed to be a transitional form from a lipid droplet to an electron-transparent vesicle. At the stage when the bud length is 10.5 cm, there are scarcely any lipid droplets but many electron-transparent vesicles. After this stage, many electron-transparent vesicles and microtubules are observed in the generative cytoplasm. In the generative cell of a pollen tube cultured 16 hrs. on the sugar-agar medium, some of the vesicles are opened and discharge lipid droplets into the generative cell wall.

引用文献

1. Camp R. R. and W. F. Whittingham 1972 Host-parasite relationships in sooty blotch disease of white clover. *Amer. J. Bot.* **59** 1057-1067
2. Cass D. D. and I. Karass 1975 Development of sperm cells in barley. *Can. J. Bot.* **53** 1051-1062
3. Dunwell J. M. and N. Sunderland 1976 Pollen ultrastructure in anther cultures of *Datura innoxia*. *J. cell Sci.* **22** 469-480
4. Ledbetter M. C. and K. R. Porter 1970 Introduction to the fine structure of plant cells. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. New York.
5. 中沢潤 1976 花粉の形態形成 遺伝 **30** (5) 18-23
6. Niki T. and J. Nakazawa 1974 Studies on the fine structure of pollen development in *Tradescantia reflexa* Rafin. *Japanese Journal of Palynology* **13** 1-7
7. Rambourg A. and C. P. Leblond 1967 Electron microscope observations on the carbohydrate-rich cell coat present at the surface of cells in the rat. *J. Cell Biology* **32** 27-53
8. Sanger J. M. and W. T. Jackson 1971a Fine structure study of pollen development in *Haemanthus katherinae* Baker. II. Microtubules and elongation of the generative cells. *J. Cell Sci.* **8** 303-315
9. Sanger J. M. and W. T. Jackson 1971b Fine structure study of pollen development in *Haemanthus katherinae* Baker. III. Changes in organelles during development of the vegetative cell. *J. Cell Sci.* **8** 317-329
10. Sato T. 1968 A modified method for lead staining of thin sections. *J. Electron Microscopy* **17** 158-159

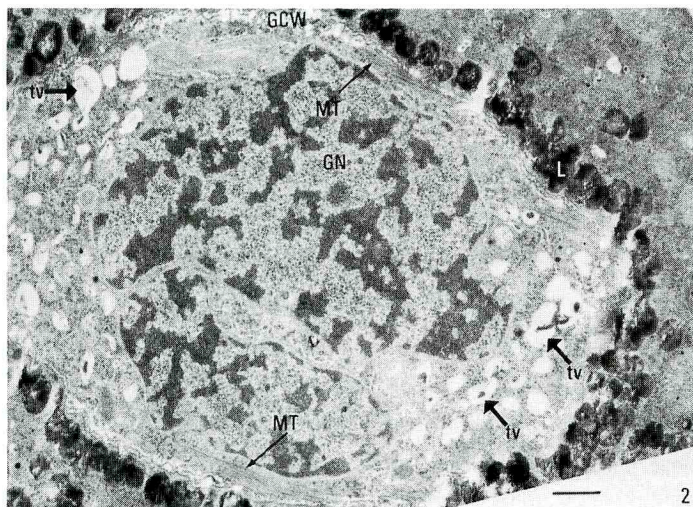
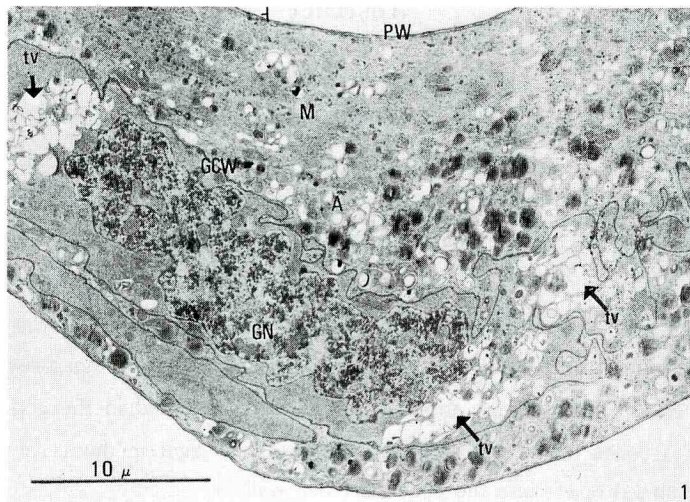


Fig. 1 A generative cell in a pollen tube cultured 3 hrs. of *Lilium longiflorum*. Many electron-transparent vesicles which are surrounded with a single unit membrane (the arrow shows them) are observed the upper and lower areas of the generative nucleus.

Abbreviations of plates : A; Amyloplast, G; Golgi body, GCW; Generative cell wall, GN; Generative nucleus, L; Lipid droplet, M; Mitochondrion, MT; Microtubules, PW; Pollen tube wall, tv; Electron-transparent vesicle.

Fig. 2 A generative cell in a pollen grain of *Narcissus Tazetta* (the bud length is 2.5 cm). Many electron-transparent vesicles in both ends of the generative nucleus, and microtubules in the other side areas are observed.

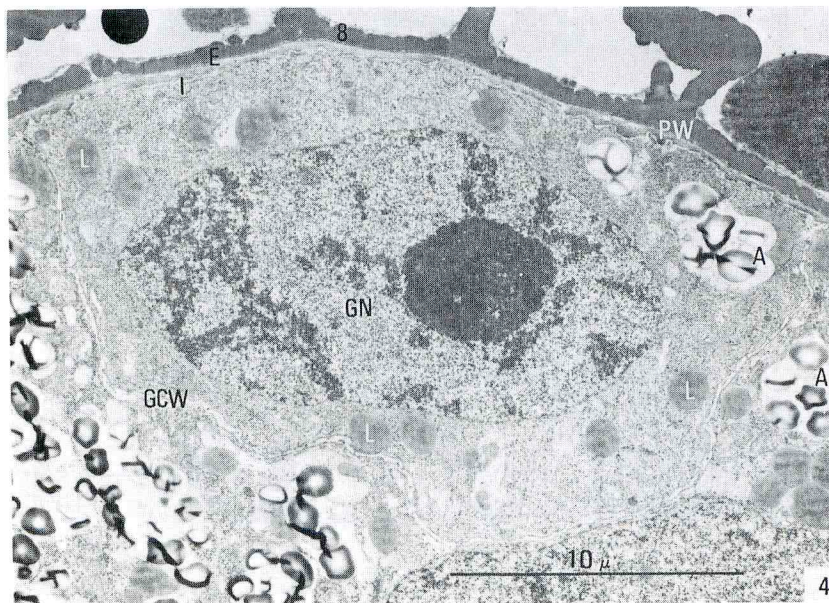
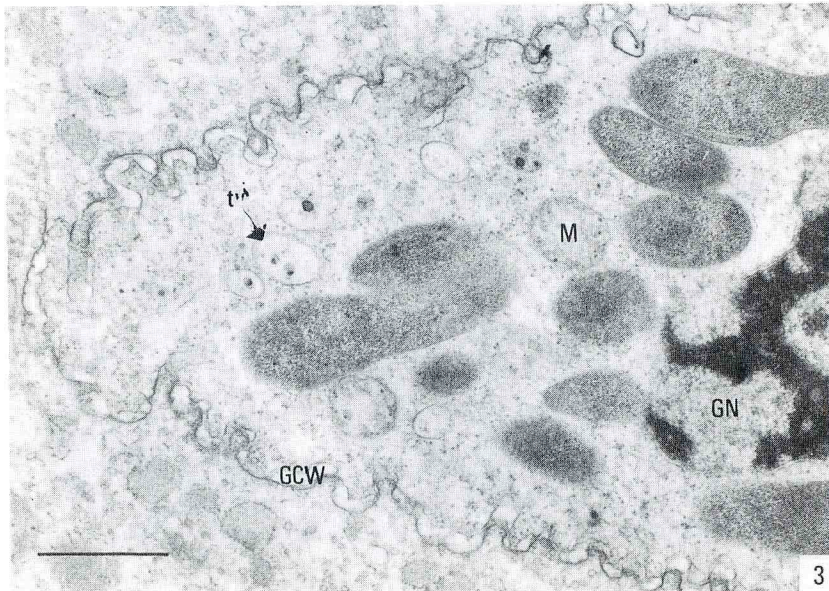


Fig. 3 A generative cell in a matured pollen grain of *Lathyrus odoratus*. Few electron-transparent vesicles are observed in the end areas of the generative cytoplasm.

Fig. 4 A generative cell just after mitosis in a pollen grain of *L. longiflorum*. (the bud length is 5.6 cm). There are many lipid droplets around the nucleus but not the electron-transparent vesicles.

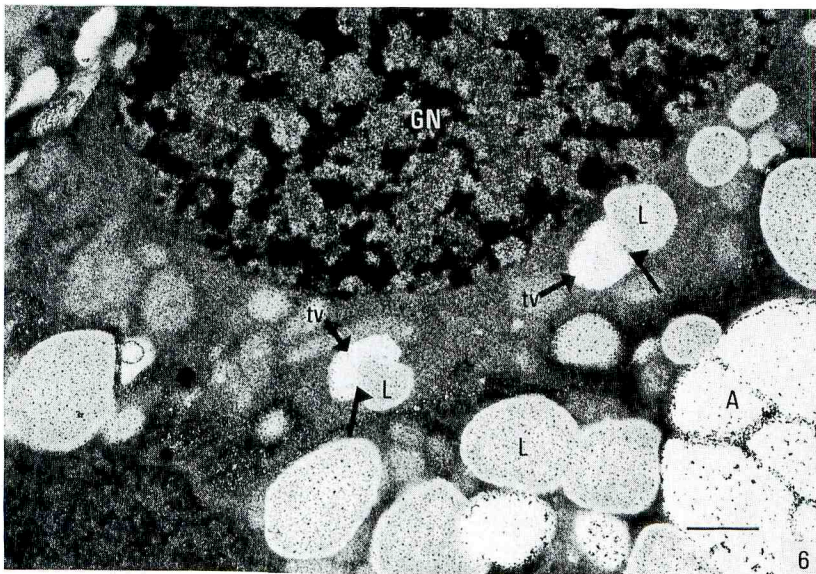
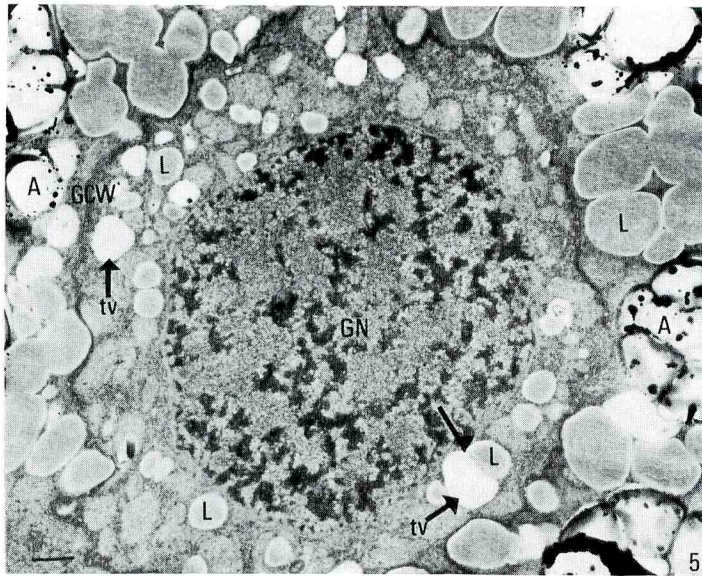


Fig. 5 The vesicle is assumed to be a transitional form () from a lipid droplet to an electron-transparent vesicle in the cytoplasm of a generative cell of *L. longiflorum* (the bud length is 7.4 μ m).

Fig. 6 Here is also the vesicle assumed to be a transitional form () from a lipid droplet to an electron-transparent vesicle of the same stage. This section was treated by the periodic acid-silver methenamine technique for the ultrastructural localization of the polysaccharide.

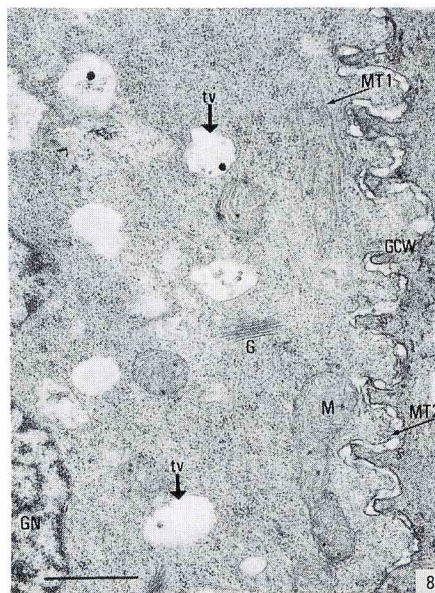
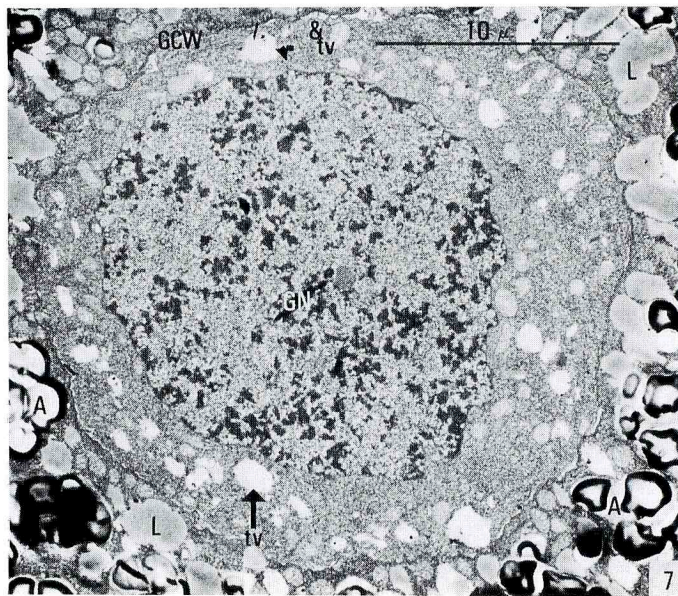


Fig. 7 A generative cell in the pollen grain of a bud which length is 9.5 cm. There are scarcely any lipid droplets but many electron-transparent vesicles in the cytoplasm.

Fig. 8 A generative cell in the pollen grain of a bud which length is 15.2 cm. There are many electron-transparent vesicles, microtubules (longitudinal section; MT 1, cross section; MT 2), mitochondria and Golgi body.

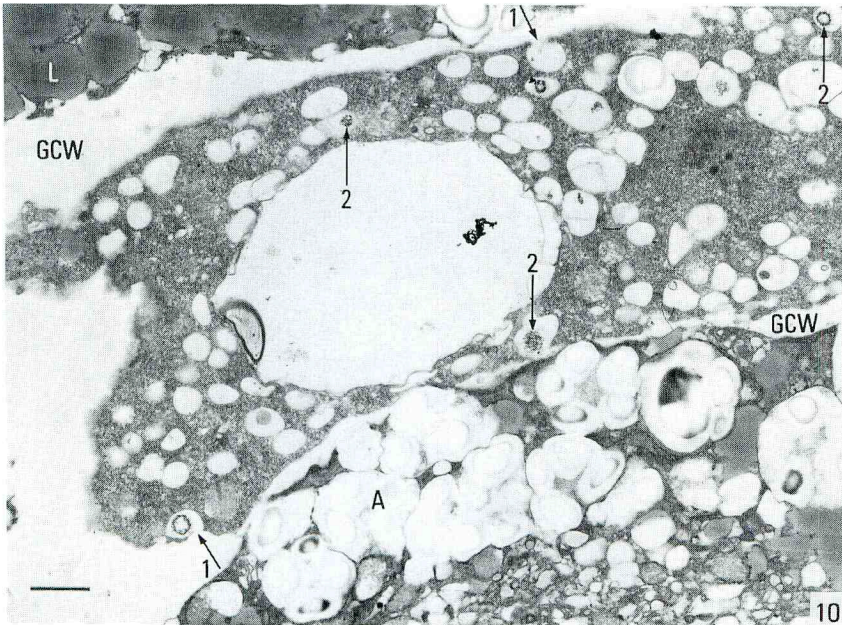
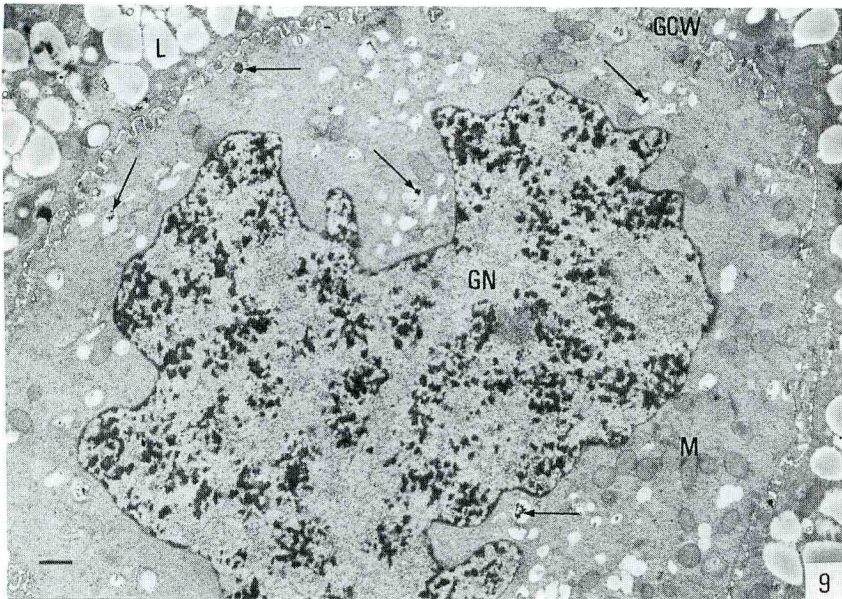


Fig. 9 A generative cell in the mature pollen grain of the anthesis stage. There are many electron-transparent vesicles in the cytoplasm. Note the osmiophilic material deposited in some of them (the arrow shows that).

Fig. 10 The electron-transparent vesicles in a generative cell of a pollen tube cultured 16 hrs. Some of the vesicles are opening into the generative cell wall (arrow 1). Deposited osmiophilic material; arrow 2.

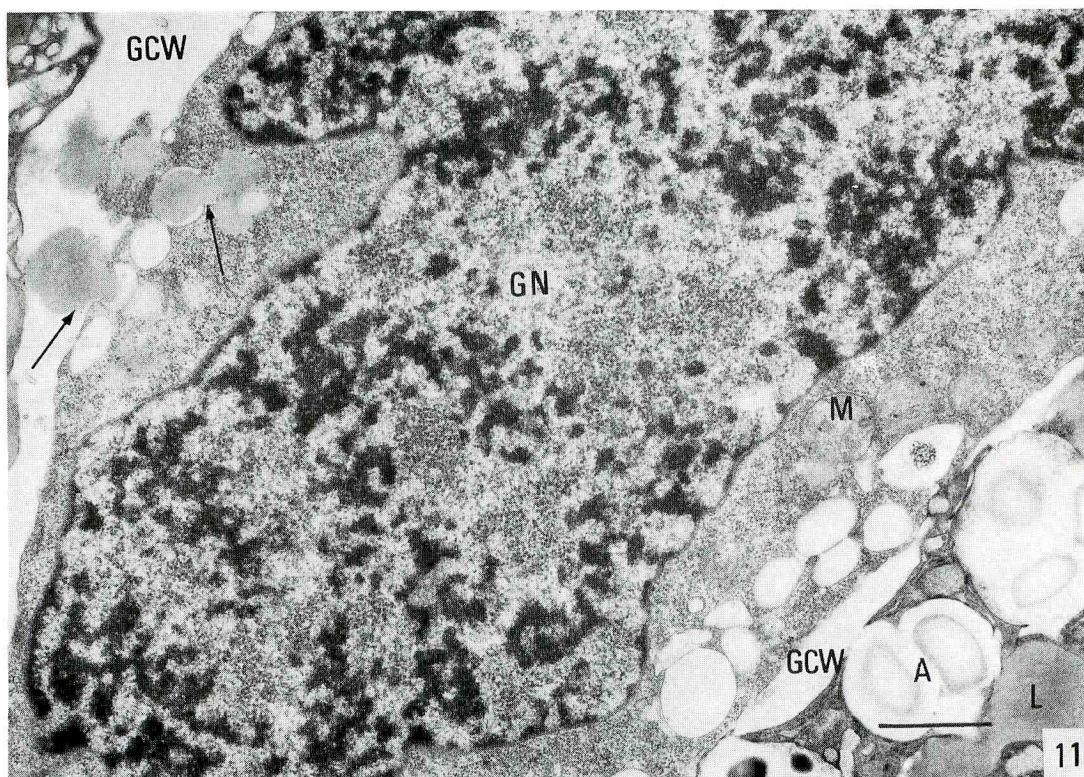


Fig. 11 The same stage as the above. Lipid droplets are released from the electron-transparent vesicles to the generative cell wall (arrow).

(In Figs. 4-11, the materials are *L. longiflorum*, and in Figs. 2, 3, 5, 6, 8, 9; 10 and 11, the scale line shows 1μ).

☆投稿 について

投稿する時には、投稿の規定（和文表紙の裏）をよく読んで、切に間に合せて下さい。また会誌の形式をよく研究して下さい。とくにタイトルの形式は大切です。タイプライトする時は、著者の名はスモール、姓はカピトルで打って下さい。また原稿の本文・図・表・写真などの枚数を明記した送付表を必ず送って下さい。次号切は昭和 52 年 10 月末日です。